



PATENT
2870-0257P

IN THE U.S. PATENT AND TRADEMARK OFFICE

Applicant: Masaaki TERASHIMA et al. Conf.: 2450
Appl. No.: 10/621,400 Group: Unassigned
Filed: July 18, 2003 Examiner: Unassigned
For: PH ELECTRODE

L E T T E R

Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450

NOV 04 2003

Sir:

Under the provisions of 35 U.S.C. § 119 and 37 C.F.R. § 1.55(a), the applicant(s) hereby claim(s) the right of priority based on the following application(s):

<u>Country</u>	<u>Application No.</u>	<u>Filed</u>
Japan	2002-210804	July 19, 2002

A certified copy of the above-noted application(s) is(are) attached hereto.

If necessary, the Commissioner is hereby authorized in this, concurrent, and future replies, to charge payment or credit any overpayment to Deposit Account No. 02-2448 for any additional fee required under 37 C.F.R. §§ 1.16 or 1.17; particularly, extension of time fees.

Respectfully submitted,

BIRCH, STEWART, KOLASCH & BIRCH, LLP



Marc S. Weiner, #32,181
P.O. Box 747
Falls Church, VA 22040-0747
(703) 205-8000

MSW/sh
2870-0257P

Attachment(s)

(Rev. 09/30/03)

Masacki Terashima et al.

10/621/430 Filed 7/18/03

Buch, Stewart, Kolasch + Birch LLP

日本国特許庁 703/205-8000
JAPAN PATENT OFFICE 2870-257A

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office

出願年月日

Date of Application:

2002年 7月19日

出願番号

Application Number:

特願2002-210804

[ST.10/C]:

[JP2002-210804]

出願人

Applicant(s):

富士写真フイルム株式会社

2003年 6月 4日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

太田信一郎

出証番号 出証特2003-3043540

【書類名】 特許願

【整理番号】 A21019A

【提出日】 平成14年 7月19日

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 G61N 27/333

【発明者】

【住所又は居所】 埼玉県朝霞市泉水 3 - 1 1 - 4 6 富士写真フイルム株式会社内

【氏名】 寺嶋 正明

【発明者】

【住所又は居所】 埼玉県朝霞市泉水 3 - 1 1 - 4 6 富士写真フイルム株式会社内

【氏名】 瀬志本 修

【特許出願人】

【識別番号】 000005201

【氏名又は名称】 富士写真フイルム株式会社

【代理人】

【識別番号】 110000109

【氏名又は名称】 特許業務法人特許事務所サイクス

【代表者】 今村 正純

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 170347

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 0205141

【ブルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 p H電極

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 非導電性支持体、銀層とハロゲン化銀層とからなる互いに電氣的に絶縁された一对の電極層、電解質層、およびイオン選択性膜がこの順に積層されてなるイオン選択電極を少なくとも二個有し、かつその二個のイオン選択電極のうち少なくとも一つは水素イオン選択電極であり、そして被検液付与用開口部と参照液付与用開口部とを有する非導電性部材、付与された被検液を各イオン選択電極の一方の電極に供給する分配部材、付与された参照液を他方の電極に供給する分配部材、および被検液と参照液を電氣的に導通させる架橋部材を備えた複合 p H電極において、水素イオン選択性膜が炭酸ガスで飽和されていることを特徴とする、複合 p H電極。

【請求項 2】 水素イオン選択性膜が、トリ n -ドデシルアミン (TDDA)、トリスエチルヘキシルトリメリテート、カリウム・テトラキス (p -クロロフェニルボレート)、および塩化ビニル・酢酸ビニル共重合体からなる膜であることを特徴とする、請求項 1 に記載の複合 p H電極。

【請求項 3】 請求項 1 又は 2 に記載の複合 p H電極に被検液と参照液を供給し、電極間の電位差を測定することを含む、被検液の p Hを測定する方法。

【請求項 4】 被検液と実質的に等しい濃度の重炭酸イオンを含有する参照液を使用する、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】 参照液中の重炭酸イオンの濃度が 2 0 ~ 4 0 mMである、請求項 3 又は 4 に記載の方法。

【請求項 6】 非導電性支持体、銀層とハロゲン化銀層とからなる互いに電氣的に絶縁された一对の電極層、電解質層、およびイオン選択性膜がこの順に積層されてなるイオン選択電極を少なくとも二個有し、かつその二個のイオン選択電極のうち少なくとも一つは水素イオン選択電極であり、そして被検液付与用開口部と参照液付与用開口部とを有する非導電性部材、付与された被検液を各イオン選択電極の一方の電極に供給する分配部材、付与された参照液を他方の電極に供給する分配部材、および被検液と参照液を電氣的に導通させる架橋部材を備え

た複合 pH 電極と、被検液と実質的に等しい濃度の重炭酸イオンを含有する参照液とを含む、複合 pH 電極キット。

【請求項 7】 複合 pH 電極が、水素イオン選択性膜が炭酸ガスで飽和されていることを特徴とする複合 pH 電極である、請求項 6 に記載の複合 pH 電極キット。

【請求項 8】 参照液中の重炭酸イオンの濃度が 20 ～ 40 mM である、請求項 6 又は 7 に記載の複合 pH 電極キット。

【請求項 9】 請求項 6 から 8 の何れかに記載の複合 pH 電極キットを用いて複合 pH 電極に被検液と参照液を供給し、電極間の電位差を測定することを含む、被検液の pH を測定する方法。

【請求項 10】 非導電性支持体、銀層とハロゲン化銀層とからなる互いに電氣的に絶縁された一対の電極層、電解質層、および水素イオン選択性膜がこの順に積層され、そしてその上に、一方の電極層に対応して被検液付与用開口部を有する非導電性部材、他方の電極層に対応して参照液付与用開口部を有する非導電性部材、および開口部にて被検液と参照液を電氣的に導通させる架橋部材が備えられてなる水素イオン分析用の pH 電極において、該水素イオン選択性膜が炭酸ガスで飽和されていることを特徴とする、pH 電極。

【請求項 11】 水素イオン選択性膜が、トリ n-ドデシルアミン (TDDA)、トリスエチルヘキシルトリメリテート、カリウム・テトラキス (p-クロロフェニルボレート)、および塩化ビニル・酢酸ビニル共重合体からなる膜であることを特徴とする、請求項 10 に記載の pH 電極。

【請求項 12】 請求項 10 又は 11 に記載の pH 電極に被検液と参照液を供給し、電極間の電位差を測定することを含む、被検液の pH を測定する方法。

【請求項 13】 被検液と実質的に等しい濃度の重炭酸イオンを含有する参照液を使用する、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 14】 参照液中の重炭酸イオンの濃度が 20 ～ 40 mM である、請求項 12 又は 13 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、水素イオン濃度を測定するための乾式の pH 電極に関する。本発明は特に、血液又は血清など体液中の水素イオン濃度をポテンシオメトリカルに測定するための pH 電極、およびそれを用いた pH 測定方法に関するものである。

【0002】

【従来の技術】

液体（水道水、河川水、下水、産業排水など）や生物体液（血液、尿、唾液など）の中に含まれる特定のイオンの濃度（または活量）を、イオン選択性電極を用いて測定する方法は既に知られている。

【0003】

この測定方法には湿式法と乾式法とがあり、湿式法では一般に、電極内部に標準液を有するバレル型電極が用いられているが、電極の保守、洗浄、コンディショニング、寿命、破損などの点で管理が厄介であり、また針状の電極を試料液に浸漬するために数百 μL 以上もの試料液を必要とするとの欠点がある。

【0004】

このような不便を排除するために、乾式のフィルム状のイオン選択性電極を用いる方法が提案されている。乾式のイオン選択性電極は、水性液体、特に血液、尿、唾液などの生物体液の液適量を用いて、その中に含まれる特定イオンの濃度をポテンシオメトリカルに測定するための測定具（イオン活量測定器具とも称する）であり、その基本的構成については既に特公平 3 - 5 4 7 8 8 号および同 4 - 5 0 5 3 0 号公報などに記載されている。すなわち、イオン選択性電極は、支持体、導電性金属層（例えば、銀層）、該金属の水不溶性塩を含む層（例えば、塩化銀層）、該水不溶性塩の陰イオンと共通の陰イオンとカチオン（例えば、カリウムイオン、ナトリウムイオン）との電解質塩（例えば、塩化カリウム、塩化ナトリウム）とバインダーとを含む電解質層、およびイオン選択性膜がこの順に一体化された基本構成を有する乾式の電極フィルムである。この電極フィルム 2 個を一对として、架橋部材で連絡し、電位差計に接続した後、試料液（被検液）と標準液（参照液）をそれぞれ各電極フィルムの上に点着し、その電位差を測定することにより、試料液中の特定イオンの濃度を求めることができる。このフイ

ルム状のイオン選択性電極を用いる乾式法によれば、電極のメンテナンスが不要であり、測定具を小型化できるのでベッドサイドでイオン濃度を測定することが可能であり、そして測定に必要な試料液の量を大幅に低減することができる。

【 0 0 0 5 】

乾式のイオン選択性電極は、イオン選択性膜の種類を変えることにより、水素イオン (H^+)、リチウムイオン (Li^+)、ナトリウムイオン (Na^+)、カリウムイオン (K^+)、マグネシウムイオン (Mg^{2+})、カルシウムイオン (Ca^{2+})、塩素イオン (Cl^-)、炭酸水素イオン (HCO_3^-)、炭酸イオン (CO_3^{2-}) など無機イオンの濃度を測定することができる。

【 0 0 0 6 】

一方、測定具に複数個のイオン選択電極を組み込んで、被検液と参照液をそれぞれ 1 回付与することにより複数種のイオン濃度を同時に測定できるようにした複合型のイオン選択性電極も知られており、例えば特公平 4 - 7 6 5 7 7 号および同 5 - 5 6 8 1 9 号公報に記載されている。

【 0 0 0 7 】

生物体液中の上記のような無機イオン濃度を測定することは臨床医学的に重要であるが、それらのうちでも血液中のイオン化カルシウム (iCa) 濃度の測定は、カルシウムの代謝異常 (例えば、副甲状腺機能障害、癌の骨への転移) を診断する上で欠くことのできないものである。また、手術中に行われる輸血の際のカルシウム補給のモニター (カルシウムイオンが抗凝固剤として添加されるクエン酸と結合して、血中カルシウムイオンが減少することがある) や、臨床検査スクリーニングにおいても重要な測定項目となっている。一方、水素イオン濃度 (pH) も、体液の酸・塩基平衡状態を知る上での指標となるものであり、重要な測定項目であると言える。このような臨床検査においては一般に、血液中のイオン化カルシウム濃度は $pH 7.4$ における濃度で標準化されているが、そのためにはカルシウムイオン濃度とともに水素イオン濃度も併せて測定する必要がある。

【 0 0 0 8 】

乾式のイオン選択性電極は、上述したように基本的には単純な構成からなる微

小なチップであるので、試料液の必要量が極めて少なくて済み、従って体液などのように試料液の量に制限がある場合に非常に有用である。また、このように単純かつ微小な構成のイオン選択性電極は、電位差測定機とは独立に取り扱うことができ、測定毎に新たな電極に取り替えることができるとの利点もある。

【 0 0 0 9 】

これまでに、乾式多層フィルム型のイオン選択電極として Na、K、Cl 電極がすでに市販されている。参照液中の測定対象イオン濃度は、ほぼ血液の正常範囲になるように設定されている。示差法に基づく測定原理は以下の式に示すように、左右一对の電極の一方に濃度既知の標準液（参照液）を、点着し他の一方の側の電極には試料液を点着して、両電極で発生した電位の差を測定することで試料液中の特定のイオン濃度を求める方法によっている。

【 0 0 1 0 】

$$E_{\text{ref.}} = E_0 + (N/z) \cdot \text{Log} (A_{\text{ref.}})$$

$$E_{\text{sample}} = E_0 + (N/z) \cdot \text{Log} (A_{\text{sample}})$$

$$E = E_{\text{sample}} - E_{\text{ref.}} = (N/z) \cdot \text{Log} (A_{\text{sample}} / A_{\text{ref.}})$$

E：示差電位、 $A_{\text{ref.}}$ ：参照液中のイオン活量、 $E_{\text{ref.}}$ ：参照電極電位、 A_{sample} ：被検液中のイオン活量、 E_{sample} ：試料電極電位、N：ネルンスト係数、 E_0 ：標準電極電位、z：イオン価数

【 0 0 1 1 】

この測定原理にもとづく測定法では、参照液中の組成を試料液に含まれる測定対象イオン濃度に類似するように設定しておけば、発生する電位が小さく電位測定上好ましい。また、液絡部位でのいわゆるジャンクションポテンシャルの発生も抑えられ精度の良い測定ができる。これにならい pH 電極の参照液組成も血液の正常範囲の pH に設定されている。

【 0 0 1 2 】

【発明が解決しようとする課題】

しかしながら、上記のようにして作成した参照液を用いても、測定開始後の時間経過にともなう電位変化（ドリフト）が大きいという問題がある。このドリフト現象が電極毎に異なると測定値のバラツキとなり実用上問題である。またこの

現象は、電極の製造後の経時により軽減する。すなわち、製造直後の電極と製造後一定期間経過した電極とでは電位応答性が変わってしまい一定の検量線を用いて測定することができない。従って、その都度キャリブレーションが必要になり煩雑である。

【 0 0 1 3 】

即ち、本発明は、乾式多層フィルム型の pH 電極において、実用的な測定精度を得るために、上記したような電位ドリフトを抑制して pH 測定精度を向上させること、また製造直後から安定した電位が得られ、単一の検量線で測定できるようにする手段を提供することを解決すべき課題とした。

【 0 0 1 4 】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは上記課題を解決するために鋭意検討した結果、血液の電解質成分のうち、重炭酸イオンの有無が pH 電極電位のドリフトに関わっていることを見出した。試料液中の重炭酸イオンは点着後イオン選択膜中に CO_2 として拡散し、pH 電極電位に影響を与えていると考えられる。また、空気中の二酸化炭素は経時とともに徐々に pH 電極のイオン選択膜に吸収され、試料中の重炭酸イオンがイオン選択膜中に CO_2 として拡散するのと同様の効果を持つと考えられる。参照液と試料液に含まれる重炭酸イオン濃度が異なる場合は、左右の電極の応答電位に差が生ずるため、その結果としてドリフト現象が観測される。経時で電極が二酸化炭素を吸収する場合は、左右ほぼ均等に吸収すると考えられるから、参照液と試料液に含まれる重炭酸イオン濃度が異なっても、左右の電極の応答電位に差が生ずることなく、その結果ドリフトは軽減する。以上から、参照液にも試料液（例えば、血液）とほぼ同程度の濃度（例えば、約 20 mM 程度）の重炭酸イオンを含有させることで CO_2 の拡散の効果が、被検液側とキャンセルされてドリフトを抑えることができた。また、製造直後の pH 電極を二酸化炭素の雰囲気下に置くことにより、初期からドリフトを無くすことができた。さらに、両者を組み合わせることにより、pH 電極をより安定化することができた。本発明はこれらの知見に基づいて完成したものである。

【 0 0 1 5 】

即ち、本発明によれば、非導電性支持体、銀層とハロゲン化銀層とからなる互いに電氣的に絶縁された一对の電極層、電解質層、およびイオン選択性膜がこの順に積層されてなるイオン選択電極を少なくとも二個有し、かつその二個のイオン選択電極のうち少なくとも一つは水素イオン選択電極であり、そして被検液付与用開口部と参照液付与用開口部とを有する非導電性部材、付与された被検液を各イオン選択電極の一方の電極に供給する分配部材、付与された参照液を他方の電極に供給する分配部材、および被検液と参照液を電氣的に導通させる架橋部材を備えた複合 pH 電極において、水素イオン選択性膜が炭酸ガスで飽和されていることを特徴とする、複合 pH 電極が提供される。

【 0 0 1 6 】

本発明の複合 pH 電極において、好ましくは、水素イオン選択性膜は、トリートデシルアミン (TDDA)、トリスエチルヘキシルトリメリテート、カリウム・テトラキス (p-クロロフェニルボレート)、および塩化ビニル・酢酸ビニル共重合体からなる膜である。

【 0 0 1 7 】

本発明の別の側面によれば、上記の本発明の複合 pH 電極に被検液と参照液を供給し、電極間の電位差を測定することを含む、被検液の pH を測定する方法が提供される。

好ましくは、被検液と実質的に等しい濃度の重炭酸イオンを含有する参照液を使用する。被検液としてヒト全血、血漿、又は血清を使用する場合は、好ましくは、参照液中の重炭酸イオンの濃度は 20 ~ 40 mM である。

【 0 0 1 8 】

本発明のさらに別の側面によれば、非導電性支持体、銀層とハロゲン化銀層とからなる互いに電氣的に絶縁された一对の電極層、電解質層、およびイオン選択性膜がこの順に積層されてなるイオン選択電極を少なくとも二個有し、かつその二個のイオン選択電極のうち少なくとも一つは水素イオン選択電極であり、そして被検液付与用開口部と参照液付与用開口部とを有する非導電性部材、付与された被検液を各イオン選択電極の一方の電極に供給する分配部材、付与された参照液を他方の電極に供給する分配部材、および被検液と参照液を電氣的に導通させ

る架橋部材を備えた複合 pH 電極と、被検液と実質的に等しい濃度の重炭酸イオンを含有する参照液とを含む、複合 pH 電極キットが提供される。

【 0 0 1 9 】

本発明の複合 pH 電極キットにおいて、好ましくは、複合 pH 電極は、水素イオン選択性膜が炭酸ガスで飽和されており、好ましくは、参照液中の重炭酸イオンの濃度が 2 0 ~ 4 0 mM である。

【 0 0 2 0 】

本発明のさらに別の側面によれば、上記した本発明の複合 pH 電極キットを用いて複合 pH 電極に被検液と参照液を供給し、電極間の電位差を測定することを含む、被検液の pH を測定する方法が提供される。

【 0 0 2 1 】

本発明のさらに別の側面によれば、非導電性支持体、銀層とハロゲン化銀層とからなる互いに電氣的に絶縁された一对の電極層、電解質層、および水素イオン選択性膜がこの順に積層され、そしてその上に、一方の電極層に対応して被検液付与用開口部を有する非導電性部材、他方の電極層に対応して参照液付与用開口部を有する非導電性部材、および開口部にて被検液と参照液を電氣的に導通させる架橋部材が備えられてなる水素イオン分析用の pH 電極において、該水素イオン選択性膜が炭酸ガスで飽和されていることを特徴とする、pH 電極が提供される。

【 0 0 2 2 】

本発明の pH 電極において、好ましくは、水素イオン選択性膜は、トリートドデシルアミン (TDDA)、トリスエチルヘキシルトリメリテート、カリウム・テトラキス (p-クロロフェニルボレート)、および塩化ビニル・酢酸ビニル共重合体からなる膜である。

【 0 0 2 3 】

本発明のさらに別の側面によれば、上記した本発明の pH 電極に被検液と参照液を供給し、電極間の電位差を測定することを含む、被検液の pH を測定する方法が提供される。

好ましくは、被検液と実質的に等しい濃度の重炭酸イオンを含有する参照液を

使用する。さらに好ましくは、参照液中の重炭酸イオンの濃度は 2 0 ~ 4 0 m M である。

【 0 0 2 4 】

【発明の実施の形態】

本発明の p H 電極は、種々の具体的構成をとることができるが、その例として図面を参照しながら説明する。図 1 は、本発明のカルシウムイオン又は水素イオン分析用の p H 電極の構成の例を示す概略斜視図である。図 1 において、p H 電極は、順に非導電性支持体 1 1、銀層 1 2 a、1 2 b（銀層は、図示したように支持体表面の一部に達する切削溝により二つの領域に分離されている）、塩化銀層 1 3 a、1 3 b、電解質層 1 4、および水素イオン選択性膜 1 5 が積層された構成を有する。水素イオン選択性膜 1 5 の上には、水不透過性の非導電性部材 1 6 が設けられ、非導電性部材 1 6 には、一对の銀層と塩化銀層（電極層）の対応する位置それぞれに、被検液付与用の開口部 1 7 a および参照液付与用の開口部 1 7 b が設けられている。そして開口部 1 7 a、1 7 b には被検液と参照液を電気的に導通させるための架橋部材 1 8 が備えられている。

【 0 0 2 5 】

図 2 は、本発明の複合 p H 電極の構成の例を示す分解斜視図である。図 2 の複合 p H 電極において、三対のフィルム状のイオン選択電極 2 1 a、2 1 b、2 1 c が、上部枠体 2 2 と下部枠体 2 3 との間に配置されている。上部枠体 2 2 には、被検液付与用の開口部 2 4 a および参照液付与用の開口部 2 4 b が設けられている。開口部 2 4 a、2 4 b には被検液と参照液を電気的に導通させるための架橋部材 2 5 が備えられている。下部枠体 2 3 の上面には、被検液および参照液をそれぞれ各電極まで水平方向に移送するための分配部材 2 6 a、2 6 b が設けられている。また、下部枠体 2 3 には、各イオン選択電極の両端の電極接続領域を下方に向けて露出させるための孔 2 7、および空気抜き孔 2 8 が設けられている。三対のイオン選択電極 2 1 a、2 1 b、2 1 c はいずれも、上記 図 1 と同様の層構成を有し、イオン選択性膜が下側となるように倒立した状態で配置されている。

【 0 0 2 6 】

図 2 において、三対のイオン選択電極のうち 2 1 a はカルシウムイオン選択性の電極対であり、2 1 b は水素イオン選択性の電極対であり、そして 2 1 c は主として金属銀からなる仮の電極対であって放電機能を果たす。なお、本発明の複合 p H 電極において、イオン選択電極は三対に限定されるものではなく、また複数の電極対のうちの 2 個がカルシウムイオン選択電極および水素イオン選択電極である限り、残りの電極対は任意のイオン選択性あるいは放電機能を果たす仮の電極対とすることができる。

【 0 0 2 7 】

上記の図 1 および図 2 は、イオン選択電極のうち一つがカルシウムイオン選択電極であり、もう一つが水素イオン選択電極である場合を例に挙げて説明したが、本発明においては、イオン選択電極のうち少なくとも一つが水素イオン選択電極であればよく、他のイオン選択電極としては、カルシウムイオン選択電極以外のイオン選択電極を用いることもできる。

【 0 0 2 8 】

本発明の複合 p H 電極において、水素イオン選択膜以外のイオン選択性膜の厚さは特に限定されるものではないが、測定精度、特に測定値の再現性を高めるためには、その膜厚が $5\ \mu\text{m}$ 以上 $30\ \mu\text{m}$ 以下であることが好ましく、さらに好ましくは $5\ \mu\text{m}$ 以上 $20\ \mu\text{m}$ 以下であり、特に好ましくは $10\ \mu\text{m}$ 以上 $18\ \mu\text{m}$ 以下である。

【 0 0 2 9 】

また、カルシウムイオン選択性膜の材料は、後述するようにイオン選択性電極のカルシウムイオン選択性膜として公知の材料の中から任意に選択して用いることもできるが、特に好ましいのは、カルシウム・ジ[4-(1, 1, 1, 3-テトラメチルブチル)フェニル]ホスフェート、ジオクチルフェニルホスホネート(可塑剤)、および塩化ビニル・酢酸ビニル共重合体の組合せである。なお、これらの材料と公知材料とを適宜組み合わせ使用することもできる。

【 0 0 3 0 】

一方、水素イオン選択電極のイオン選択性膜の材料としては、経時による電極性能の劣化を防いで測定精度、特に測定値の再現性を高めるために、トリ- n -

ドデシルアミンおよび可塑剤としてトリスエチルヘキシルトリメリテートが用いられる。イオン選択性膜の特に好ましい組合せは、トリ- n -ドデシルアミン、トリスエチルヘキシルトリメリテート、カリウム・テトラキス（ p -クロロフェニルボレート）、および塩化ビニル・酢酸ビニル共重合体からなる組合せである。なお、上記材料と他の公知材料とを適宜組み合わせ使用することもできる。

【 0 0 3 1 】

水素イオン選択性膜の膜厚は特に限定されるものではないが、測定値の再現性の点から、そして示差式電位測定法固有の問題である電極対の左右バランスを取るためには、 $5\text{ }\mu\text{m}$ 以上 $30\text{ }\mu\text{m}$ 以下であることが好ましく、より好ましくは $5\text{ }\mu\text{m}$ 以上 $20\text{ }\mu\text{m}$ 以下である。

【 0 0 3 2 】

上記いずれのイオン選択性膜も、従来公知の方法により形成することができるが、例えば上記組合せからなる材料を適当な溶媒に溶解した後、電解質層の上に塗布、乾燥して形成する。その際に電極性能を安定化させるために、 35°C の温度で24時間エージングすることが好ましい。

【 0 0 3 3 】

本発明の第一の態様によれば、炭酸ガスで飽和されている水素イオン選択性膜を使用する。水素イオン選択性膜を炭酸ガスで飽和するためには、水素イオン選択性膜自体を単独で炭酸ガス（例えば、ドライアイスなど）で処理してもよいし、水素イオン選択性膜を組み込んだ pH 電極を炭酸ガスで処理してもよい。

【 0 0 3 4 】

水素イオン選択性膜を炭酸ガスで飽和するための CO_2 処理の方法は特に限定されないが、例えば、適量のドライアイスを含む箱又は袋などの好適な容器内（好ましくは、密閉できる箱又は袋など）に水素イオン選択性膜又はそれを含む pH 電極を静置することによって行ってもよい。ドライアイス処理の時間は特に限定されないが、数時間から数日間の処理を行うことにより、水素イオン選択性膜を炭酸ガスで飽和させることができる。あるいは、容器を使用することなく炭酸ガスを直接、水素イオン選択性膜又はそれを含む pH 電極に吹き付けてもよい。

このような炭酸ガスで飽和されている水素イオン選択性膜を使用することによ

り、電位ドリフトを抑制することが可能になる。

【 0 0 3 5 】

本発明の第二の態様によれば、被検液と実質的に等しい濃度の重炭酸イオンを含有する参照液を使用する。被検液が血液（全血）の場合、参照液中の重炭酸イオンの濃度は 2 0 ～ 4 0 mM であることが特に好ましい。このような重炭酸イオンを含有する参照液を使用することによって、電位ドリフトを抑制することが可能になる。

【 0 0 3 6 】

また、本発明で用いる参照液では、イオン濃度を適当に調節することにより、血液だけでなくその他の液の pH 測定を行うことも可能になる。本発明の pH 電極を用いることにより、例えば、血液以外の体液、食品、工業排水、又は土壌などの pH を測定することもできる。

【 0 0 3 7 】

本発明では、上記したような被検液と実質的に等しい濃度の重炭酸イオンを含有する参照液を、pH 電極と組み合わせてキットの形態で供給することができる。本発明のキットに含まれる pH 電極としては、非導電性支持体、銀層とハロゲン化銀層とからなる互いに電氣的に絶縁された一对の電極層、電解質層、およびイオン選択性膜がこの順に積層されてなるイオン選択電極を少なくとも二個有し、かつその二個のイオン選択電極のうち少なくとも一つは水素イオン選択電極であり、そして被検液付与用開口部と参照液付与用開口部とを有する非導電性部材、付与された被検液を各イオン選択電極の一方の電極に供給する分配部材、付与された参照液を他方の電極に供給する分配部材、および被検液と参照液を電氣的に導通させる架橋部材を備えた複合 pH 電極である。

本発明のキットの特に好ましい態様では、水素イオン選択性膜が炭酸ガスで飽和されている複合 pH 電極を使用することができる。

【 0 0 3 8 】

本発明において、pH 電極は、前記図 2 の構成に限定されるものではなく、公知の各種の構成をとることができる。また、pH 電極の各層および各部材の材料並びにその製造方法についても公知の材料および方法の中から任意に選択して用

いることができる。そのような pH 電極の構成、材料および製造法については、例えば特公昭 5 8 - 4 9 8 1 号、特開昭 5 2 - 1 4 2 5 8 4 号、同 5 7 - 1 7 8 5 2 号、同 5 8 - 2 1 1 6 4 8 号、特公平 4 - 5 0 5 3 0 号の各公報；米国特許第 4 0 5 3 3 8 1 号、同第 4 1 7 1 2 4 6 号、同第 4 2 1 4 9 6 8 号の各明細書；および「Research Disclosure」誌報文 No. 1 6 1 1 3（1 9 7 7 年 9 月号）に詳細に記載されている。

【 0 0 3 9 】

血液の pH 及び血液中のカルシウムイオン濃度の測定は、本発明の複合 pH 電極を用いて以下のようにして行うことができる。例えば、図 2 に示したような複合 pH 電極の開口部 2 4 a、2 4 b に、被検液である血液および参照液をそれぞれ点着付与する。付与された被検液および参照液はそれぞれ、図 2 に矢印で示したように分配部材 2 6 a、2 6 b に浸透し、分配部材により移送されて各イオン選択電極 2 1 a、2 1 b、2 1 c のイオン選択性膜表面に供給され、各イオン選択電極の電極対間には電位差が発生する。この電位差をそれぞれ各電極の両端の電気接続領域を介して電位差計 2 9 で測定する。

【 0 0 4 0 】

さらに、得られた測定値と予め調製した検量線とから、カルシウムイオン濃度および水素イオン濃度を算出した後、式： $\text{Log} (i C a \text{ at } 7.4) = \text{Log} (i C a \text{ at } p H) - 0.22 \times (7.4 - p H)$ （ただし、 $i C a$ はカルシウムイオン濃度を表し、 $p H$ は水素イオン濃度を表す）に代入、換算して、カルシウムイオンの pH 7.4 における標準化された濃度を検出する。このようにして、一回の測定で、カルシウムイオンおよび水素イオンの両濃度を求めることができるとともに、臨床検査で通常要求されるカルシウムイオンの pH 7.4 における標準化濃度を正確かつ簡単に求めることができる。

【 0 0 4 1 】

なお、本発明の pH 電極は、上述したような血液中のカルシウムイオン濃度および／または水素イオン濃度の測定に限定されるものではなく、参照液の濃度を変えることにより、それより高濃度あるいは低濃度の試料（例えば、食物、血液以外の体液）にも適用することができる。また、試料が雨水、水道水などであれ

ば、水の硬度や酸性・塩基性度を求めることも可能である。

【0042】

【実施例】

〔実施例1〕カルシウムイオン選択性電極

ポリエチレンテレフタレートフィルム（支持体、厚み：188 μm 、寸法30 mm×100 mm）の上に、真空蒸着により厚み約800 nmの金属銀層（蒸着銀層）を形成した。この銀層の両端部を特開昭58-102146号公報に開示のポリマー組成物液状レジストで被覆して保護し、一方銀層の中央部分をバイトを用いて切削除去して浅いU字型溝状の絶縁部分を設けた。

【0043】

次に、銀層の非被覆部分に、塩酸および重クロム酸カリウム含有処理液（塩化水素36 mM/lと重クロム酸カリウム16 mM/lを含む水溶液）を用いて、約60秒間接触酸化塩化処理を行った。処理終了後、積層体を水洗、乾燥して一対のフィルム状の銀・塩化銀電極（支持体、銀層、塩化銀層からなる積層体）を得た。

【0044】

塩化ナトリウム28.8 gを、エタノール192 gと精製水240 gの混合溶媒に溶解して電解質塗布液を調製した。この塗布液を銀・塩化銀電極フィルム上に塗布した後、空气中に放置して塗布層を自然乾燥した。乾燥後の塗布層（電解質層）の重量は2.1 g/m²であった。

【0045】

この電解質層の上に、下記の組成からなるカルシウムイオン選択性膜を常法により膜厚が26 μm となるように形成して、カルシウムイオン選択電極を得た。その際に、35℃の温度で24時間エージングを行った。

【0046】

〔カルシウムイオン選択性膜の組成〕

カルシウム・ジ〔4-（1，1，1，3-テトラメチルブチル）フェニル〕ホスフェート（t-HDOPP） 0.3 g

ジオクチルフェニルホスホネート（DOPP） 3.0 g

塩化ビニル・酢酸ビニル共重合体 (V Y N S) 3. 0 g

メチルエチルケトン 2 0 g

【0 0 4 7】

得られたカルシウムイオン選択電極のイオン選択性膜上に、2つの液受け孔を有するプラスチックフィルム製液受けマスクを接着付設した後、その液受け孔を連絡するようにポリエステル紡績糸製ブリッジを付設して、本発明のカルシウムイオン分析用イオン選択性電極を多数個製造した(図1を参照)。

【0 0 4 8】

[実施例2] 水素イオン選択性電極 (p H電極)

ポリエチレンテレフタレートフィルム(支持体、厚み: 1 8 8 μ m、寸法 3 0 m m \times 1 0 0 m m)の上に、真空蒸着により厚み約 8 0 0 n mの金属銀層(蒸着銀層)を形成した。この銀層の両端部を特開昭 5 8 - 1 0 2 1 4 6号公報に開示のポリマー組成物液状レジストで被覆して保護し、一方銀層の中央部分をバイトを用いて切削除去して浅いU字型溝状の絶縁部分を設けた。

【0 0 4 9】

次に、銀層の非被覆部分に、塩酸および重クロム酸カリウム含有処理液(塩化水素 3 6 m M / l と重クロム酸カリウム 1 6 m M / l を含む水溶液)を用いて、約 6 0 秒間接触酸化塩化处理を行った。処理終了後、積層体を水洗、乾燥して一対のフィルム状の銀・塩化銀電極(支持体、銀層、塩化銀層からなる積層体)を得た。

【0 0 5 0】

塩化ナトリウム 2 8. 8 g を、エタノール 1 9 2 g と精製水 2 4 0 g の混合溶媒に溶解して電解質塗布液を調製した。この塗布液を銀・塩化銀電極フィルム上に塗布した後、空气中に放置して塗布層を自然乾燥した。乾燥後の塗布層(電解質層)の重量は 2. 1 g / m²であった。

【0 0 5 1】

この電解質層の上に、下記の組成からなる水素イオン選択性膜を常法により膜厚が 2 0 μ m となるように形成して、水素イオン選択電極を得た。その際に、3 5 $^{\circ}$ C の温度で 2 4 時間エージングを行った。

〔水素イオン選択性膜の組成〕

トリ-n-ドデシルアミン (TDDA) 0.1 g

トリスエチルヘキシルトリメリテート (TrisEHT) 3.0 g

カリウム・テトラキス(p-クロロフェニルボレート)(KTpCPB) 0.06 g

塩化ビニル・酢酸ビニル共重合体 (VYNS) 3.0 g

メチルエチルケトン 20 g

【0052】

得られた水素イオン選択電極のイオン選択性膜上に、2つの液受け孔を有するプラスチックフィルム製液受けマスクを接着付設した後、その液受け孔を連絡するようにポリエステル紡績糸製ブリッジを付設して、本発明の水素イオン分析用イオン選択性電極を多数個製造した(図1を参照)。

【0053】

〔実施例3〕複合pH電極

実施例1で得られたカルシウムイオン選択電極、実施例2で得られた水素イオン選択電極(pH電極)、および別途形成した支持体と金属銀層とからなる仮の電極をそれぞれ、支持体が上側、イオン選択性膜が下側になるようにして、2つの液受け孔を有するプラスチックフィルム製液受けマスクと同じくプラスチックフィルム製分配マスクとで挟んで接着付設した後、その液受け孔を連絡するようにポリエステル紡績糸製ブリッジを付設して、本発明の複合pH電極を製造した(図2を参照)。

【0054】

上記で得た複合pH電極をドライアイスを含めた箱の中に静置して常温で8時間処理した。また、比較用の複合pH電極としては、このドライアイス処理を行わない複合pH電極を用いた。

【0055】

〔実施例4〕複合pH電極の性能評価

実施例3で作製した複合pH電極について、全血、並びに NaHCO_3 を含む参照液(組成を以下に示す)又は NaHCO_3 を含まない参照液(NaHCO_3 を含まないこと以外は、下記組成と同じ)を用いて、電位差測定機(FDC800、富士

写真フィルム(株)製)を用いて、点着30、45及び60秒後における電位を5回ずつ測定した。

【0056】

(NaHCO₃を含む参照液の組成)

NaCl	100 mM
MOPS	40 mM
PVP K-15	3.0 %
グリセリン	2.0 %
ProClin 150	0.05 %
NaHCO ₃	20 mM
CaCl ₂	1.25 mM
pH	7.15

【0057】

結果を図3及び図4に示す。

図3は、NaHCO₃を含まない参照液を用いた場合の結果を示し、図中において「CO₂処理」とあるのは、ドライアイス処理した複合pH電極を用いた場合の結果(本発明の実施例の結果)を示し、「無処理」とあるのは、ドライアイス処理を行わなかった複合pH電極を用いた場合の結果(比較例の結果)を示す。

図4は、NaHCO₃を含む参照液を用いた場合の結果を示し、図中において「CO₂処理」とあるのは、ドライアイス処理した複合pH電極を用いた場合の結果(本発明の実施例の結果)を示し、「無処理」とあるのは、ドライアイス処理を行わなかった複合pH電極を用いた場合の結果(本発明の実施例の結果)を示す。

【0058】

図3および図4の結果から分かるように、ドライアイス処理した複合pH電極を用いるか、及び/又はNaHCO₃を含む参照液を用いることにより、電位ドリフトを抑制することができることが判明した。一方、複合pH電極をドライアイス処理せず、かつNaHCO₃を含まない参照液を用いた場合(図3において

、「無処理」と示した結果)には、大きな電位ドリフトが生じた。

【0059】

さらに、参照液中の NaHCO_3 の濃度を0、20、30又は40mMに設定して、上記と同様に、電位差測定機(FDC800、富士写真フイルム(株)製)を用いて、点着30秒後と60秒後における電位のドリフトを測定した。結果を図5に示す。図5の結果から分かるように、参照液中の NaHCO_3 の濃度を20～40mMに設定することにより、電位ドリフトを好適に抑制できる。

【0060】

【発明の効果】

本発明によれば、乾式多層フィルム型のpH電極において、実用的な測定精度を得るために、上記ドリフトを抑制してpH測定精度を向上させることが可能になる。また、本発明のpH電極によれば、製造直後から安定した電位が得られ、単一の検量線で測定することが可能になる。

【図面の簡単な説明】

【図1】

図1は、本発明のカルシウムイオン又は水素イオン分析用のイオン選択性電極の構成の例を示す概略斜視図である。

【図2】

図2は、本発明の複合pH電極の構成の例を示す分解斜視図である。

【図3】

図3は、 NaHCO_3 を含まない参照液を用いた場合の電位の測定結果を示す。

【図4】

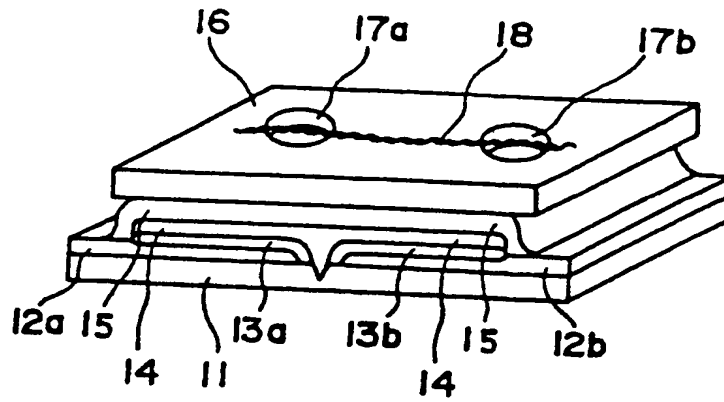
図4は、 NaHCO_3 を含む参照液を用いた場合の電位の測定結果を示す。

【図5】

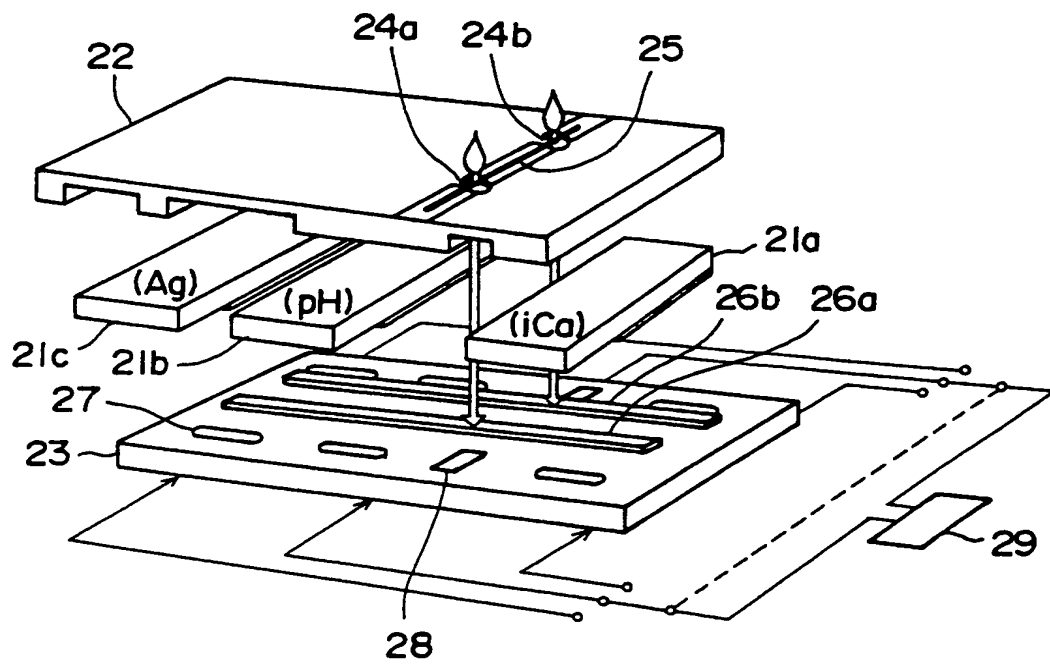
図5は、参照液中の NaHCO_3 の濃度を0、20、30又は40mMに設定して、点着30秒後と60秒後における電位のドリフトを測定した結果を示す。

【書類名】 図面

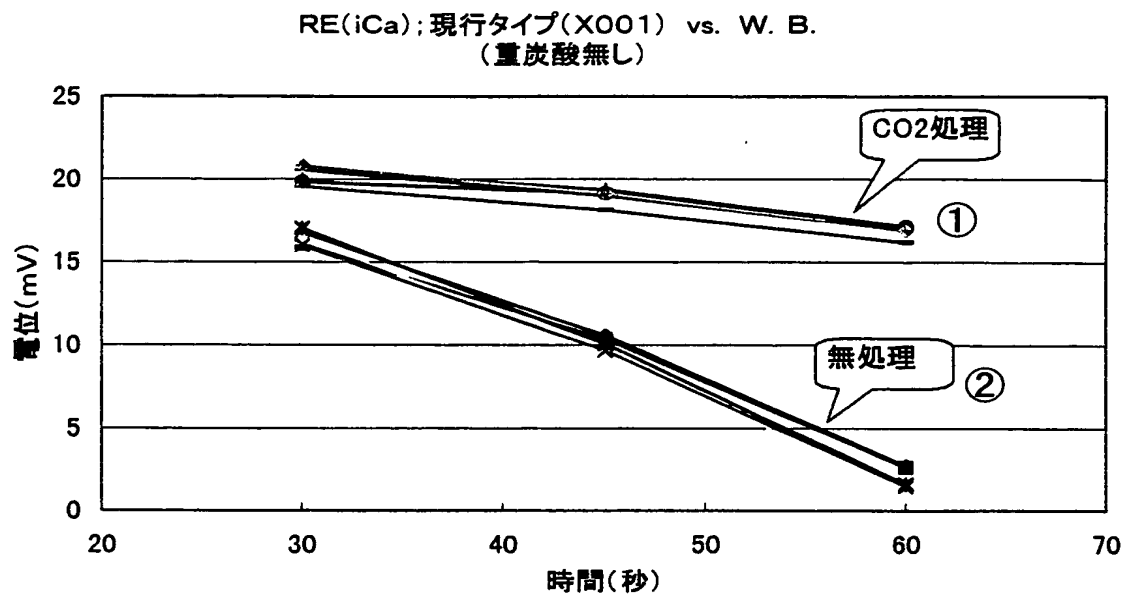
【図 1】



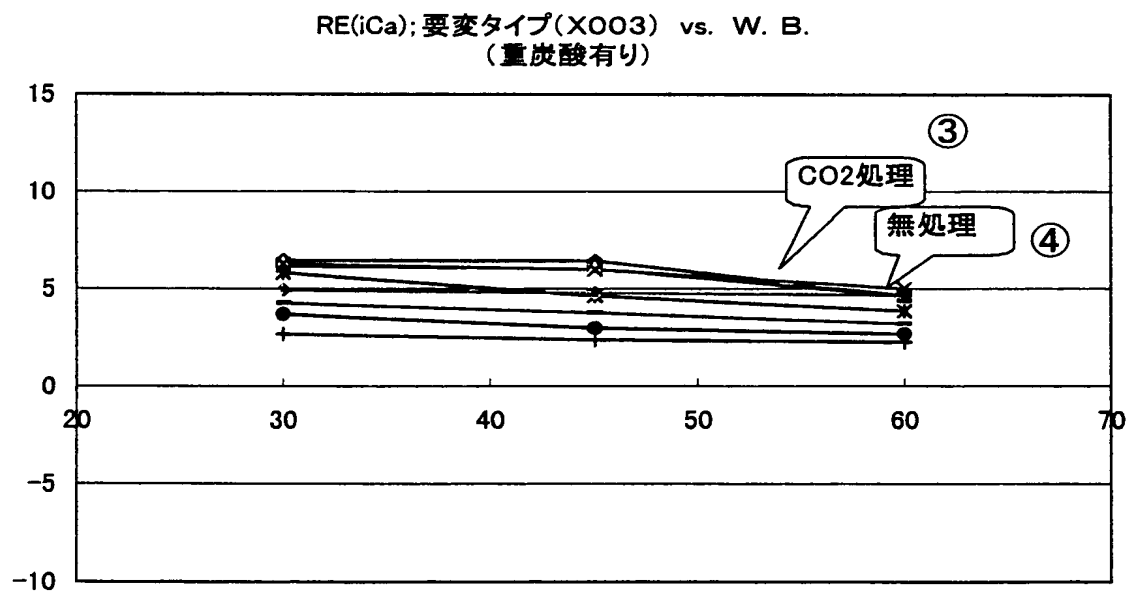
【図 2】



【図 3】

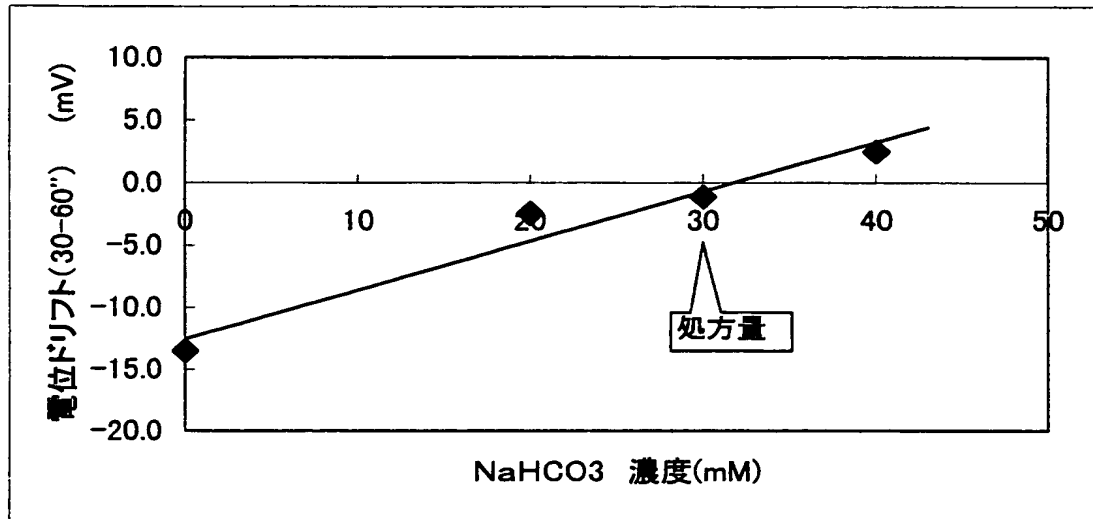


【図 4】



【図 5】

**参照液中の NaHCO_3 濃度と pH 電極の
ドリフト（対全血）**



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 乾式多層フィルム型の pH 電極において、実用的な測定精度を得るために、電位ドリフトを抑制して pH 測定精度を向上させること、また製造直後から安定した電位が得られ、単一の検量線で測定できるようにする手段を提供すること。

【解決手段】 非導電性支持体、銀層とハロゲン化銀層とからなる互いに電氣的に絶縁された一対の電極層、電解質層、およびイオン選択性膜がこの順に積層されてなるイオン選択電極を少なくとも二個有し、かつその二個のイオン選択電極のうち少なくとも一つは水素イオン選択電極であり、そして被検液付与用開口部と参照液付与用開口部とを有する非導電性部材、付与された被検液を各イオン選択電極の一方の電極に供給する分配部材、付与された参照液を他方の電極に供給する分配部材、および被検液と参照液を電氣的に導通させる架橋部材を備えた複合 pH 電極において、水素イオン選択性膜が炭酸ガスで飽和されていることを特徴とする、複合 pH 電極。

【選択図】 なし

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [0 0 0 0 0 5 2 0 1]

1. 変更年月日 1 9 9 0 年 8 月 1 4 日
[変更理由] 新規登録
住 所 神奈川県南足柄市中沼 2 1 0 番地
氏 名 富士写真フイルム株式会社